

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 19, 1981, pp. 997–1000

Teststreifen für Screening-Untersuchungen zum semiquantitativen Nachweis von Proteinurien

Von D. Vonderschmitt und A. Scholer

Zentrallabor des Kantonsspitals Basel (Schweiz)

(Eingegangen am 6. September 1980/12. Januar 1981)

Zusammenfassung: Marktübliche Streifentests, die den Eiweißfehler bestimmter Indikatoren für den kolorimetrischen Nachweis von Protein (speziell Albumin) nutzen, werden mit einer quantitativen nephelometrischen Methode verglichen. Die Untersuchung zeigte eine gute Übereinstimmung zwischen quantitativer Methode (Automated Immuno-precipitin) und Aussage der Teststreifen (Rapignost Protein/Combur-8-Test). Insgesamt trennten beide Teststreifen die Segmente für die semiquantitativen Bestimmungen gut. Zwischen den Teststreifen ergab sich in proteinhaltigen Urinen eine sehr gute Übereinstimmung. In proteinfreien Urinen zeigte der Combur-8-Test einen geringfügig höheren Anteil falsch-positiver Resultate.

Evaluation of test strips for the semi-quantitative screening for proteinurias

Summary: Commercial test strips using the protein error of certain indicators for the colorimetric detection of protein (especially albumin) were compared with a quantitative nephelometric method.

The study proved that there is good agreement between the results from the quantitative method and those from the test strips (Rapignost Protein/Combur-8-Test). Both test strips generally showed a good separation of the segments for semi-quantitative determinations. There was a very good agreement between the test strips in protein-containing urines. In protein-free urines, however, the Combur-8-Test showed a slightly higher proportion of false-positive results.

Einführung

Chronische Nierenkrankheiten erfordern in den Endstadien erhebliche Aufwendungen für operative und Heilbehandlungen. Die Morbiditätsrate wird aus epidemiologischen Studien mit 3,5% für chronische Nephropathien angegeben (1). Eine deutliche Verbesserung der Prognose und Reduktion der Aufwendung ist durch frühzeitige Erkennung und intensive nephrologische Betreuung zu erzielen.

Als leicht nachweisbares häufiges Symptom bei Nierenerkrankungen kommt die Proteinurie in Betracht, wobei zu berücksichtigen ist, daß auch körperliche und nervliche Belastung (Streß) sowie Fieber eine Erhöhung der physiologischen Proteinausscheidung bewirken können (2–6). Eine Verbesserung der diagnostischen Spezifität wird durch mehrmalige Wiederholung des Nachweises einer Proteinurie erreicht (1).

Hierfür eignen sich insbesondere die einfach zu handhabenden, billigen Streifentests (7, 8). Im folgenden werden daher anhand 440 Patientenurinen zwei marktübliche Proteinteststreifen mit einer quantitativen Proteinbestimmung verglichen.

Versuchsanordnung und -durchführung

Es wurden 440 Urinproben untersucht, welche an 10 aufeinanderfolgenden Tagen im Routinelabor des klinisch-chemischen Laboratoriums des Kantonsspitals Basel eintrafen. Eine spezielle Auswahl der Urine fand nicht statt. Fünf Personen haben am Test teilgenommen: Eine Laborantin, zwei Arztgehilfinnen, zwei Studenten. Zum Vergleich wurden die Teststreifen Combur-8-Test der Firma Boehringer Mannheim (abgekürzt mit Combur) und Rapignost Protein der Firma Behringwerke AG (abgekürzt mit Rapignost) herangezogen. Die Ablesung der Teststreifen erfolgte teils bei Tageslicht, teils bei Kunstlicht. Als Referenzmethode diente die „Automated Immunoprecipitin Methode“ (Gesamt-Serumeiweiß) der Firma Technicon, im folgenden abgekürzt mit AIP.

Das Nachweisprinzip der beiden Streifentests beruht auf dem bereits 1909 von *Soerensen* beschriebenen und 1937 von *Feigl & Anger* (9) erstmals verwendeten Eiweißfehler bestimmter Indikatorfarbstoffe. Der Rapignoststreifen enthält auf einem sauer gepufferten Testfeld den Indikator Tetrabromphenolblau, der Comburstreifen Tetrachlor-tetrabromsulphophthalein. Beide Indikatoren zeigen mit steigendem Protein- (speziell Albumin- (10))gehalt eine Farbverschiebung von gelb nach grün-blau.

Die Referenzbestimmungen wurden auf einem Auto-Analyzer® mit Nephelometer nach Angaben von *Killingsworth* et al. durchgeführt (11).

Um die Gesamtheit der im Urin ausgeschiedenen Serum-Proteine zu erfassen, wurde ein polyspezifisches Antihuman-Serum (DAKOPATT, Kopenhagen) zur Immun-Präzipitation verwen-

det. Diese Methode wird im klinisch-chemischen Laboratorium des Kantonsspitals Basel seit drei Jahren verwendet. Sie spricht nicht auf *Bence-Jones*-Proteine und Mukoproteine an. Ihre Resultate stimmen mit den klinischen Befunden besser überein als die früher übliche *Kjeldahl*-Bestimmung der Proteine (12).

Ergebnisse

Von den untersuchten 440 Urinen lagen etwa 2/3 im Normalbereich der Proteinkonzentration (0–150 mg/l Protein im Urin), etwa 1/5 im Bereich 150–1000 mg/l und knapp 7% darüber. Die Verteilung der quantitativ ermittelten Proteinkonzentrationen zeigte ein deutliches Maximum im Bereich 0–150 mg/l.

Tab. 1. Relative Verteilung der untersuchten Urine auf Proteinkonzentrationsbereiche. Die Abgrenzung der Konzentrationsbereiche erfolgte nach Abstufungen der Teststreifenvergleichsskalen.

Proteinkonzentrationsbereich gemäß AIP (mg/l)	Anzahl der Urine	Anteil (%)
0	57	13,0
> 0–150	260	59,1
> 150–300	47	10,7
> 300–1000	46	10,5
> 1000–5000	22	5,0
> 5000	8	1,8
	440	100,1

Nach Zuordnung der erhaltenen Teststreifenbefunde zu den quantitativ ermittelten Konzentrationen wurde die Häufigkeitsverteilung der Teststreifenanzeigen in den nach Tabelle 1 vorgegebenen Konzentrationsbereichen errechnet. Die resultierenden Werte zeigen Tabelle 2 und Abbildung 1. Eine sehr gute Übereinstimmung zwischen quantitativer und Teststreifenaussage ergab der Rapi-gnoststreifen in den Bereichen 0 mg/l und 150–300 mg/l mit nur etwa 9% falsch-positiven und etwa 6% falsch-negativen Anzeigen. Weniger gut zeigte sich hier der Combustreife mit etwa 19% falsch-positiven und etwa 9% falsch-negativen Anzeigen. In den Bereichen 300–1000 und 1000–5000 mg/l fand erwartungsgemäß eine Verteilung der Anzeigen auf die Meßpunkte 300/1000 bzw. 1000/5000 statt. Die Übereinstimmung zwischen

quantitativer und Teststreifenaussage sowie der Teststreifen untereinander war ebenfalls gut. Konzentrationen über 5000 mg/l Urin wurden ausnahmslos richtig angezeigt.

Im folgenden wurde die Häufigkeitsverteilung der Teststreifenanzeigen in den Meßpunkten der Teststreifenskala zugeordneten Konzentrationsbereichen errechnet. Die Zuordnung erfolgte in der durch eine Versuchsreihe bestätigten Annahme einer nicht linearen Abhängigkeit des subjektiven Farbeindrucks von der durch Teststreifen angezeigten Proteinkonzentration. Dem Meßpunkt 300 mg/l entspricht demnach der Bereich 150–500 mg/l, Meßpunkt 1000 mg/l entspricht 500–2500 mg/l und Meßpunkt 5000 mg/l entspricht 2500–5000 mg/l, wobei die Grenzen 500 bzw. 2500 mg/l die Konzentration sind, bei denen der subjektiv empfundene Farbton gerade genau zwischen dem tieferen und höheren Meßpunkt der Vergleichsskala liegt.

Die übrigen Bereiche wurden aus Tabelle 1 übernommen. Das Ergebnis dieser Häufigkeitsverteilung zeigt Abbildung 2, deren Aufbau dem der Abbildung 1 entspricht.

Diskussion

Das Prinzip des Proteinnachweises mittels Indikatoren, deren Eiweißfehler einen sichtbaren Farbumschlag bei Anwesenheit von Eiweiß hervorrufen, wird heute bei allen bekannten Streifentests angewandt (7, 13). Aus der hohen Affinität solcher Indikatoren gegenüber freien Aminogruppen resultiert, unabhängig vom Indikator, eine sehr hohe Empfindlichkeit gegenüber Albumin, dessen Ausscheidung ein wesentliches Indiz für Nierenerkrankungen darstellt.

Man muß jedoch berücksichtigen, daß diese Indikatoren Globuline sehr viel weniger empfindlich und *Bence-Jones*-Proteine nicht anzeigen (10, 12). Die Referenzmethode erfaßt hingegen die Globuline. Diese Tatsache kann zur Erklärung einzelner falsch-negativer Streifentests herangezogen werden. Andererseits ist bekannt, daß größere Konzentrationen von Mukoproteinen die Teststreifen verfärben, durch die Referenzmethode jedoch nicht erfaßt werden und deshalb im Vergleich der beiden Methoden zu falsch-positiven Testergebnissen

Tab. 2. Häufigkeitsverteilung von Teststreifen angezeigter Konzentrationsstufen in jeweiligen Konzentrationsbereichen (gemäß AIP). (Konzentrationsstufe gemäß Farbskala (mg/l)).

Proteinkonzentration gemäß AIP (mg/l)	Rapignost (Angaben in %)					Combur (Angaben in %)				
	0–150	300	1000	5000	Σ	neg.	300	1000	5000	Σ
0	91,2	7,0	1,8	—	100,0	80,7	19,3	—	—	100,0
0–150	54,6	45,4	—	—	100,0	53,8	45,3	0,8	—	99,9
150–300	6,4	80,9	10,6	2,1	100,0	8,5	78,7	10,6	2,1	99,9
300–1000	—	52,2	45,7	2,2	100,1	—	60,0	37,0	2,2	100,1
1000–5000	—	9,1	40,9	50,2	100,0	—	4,5	40,9	54,5	99,9
5000	—	—	—	100,0	100,0	—	—	—	100,0	100,0

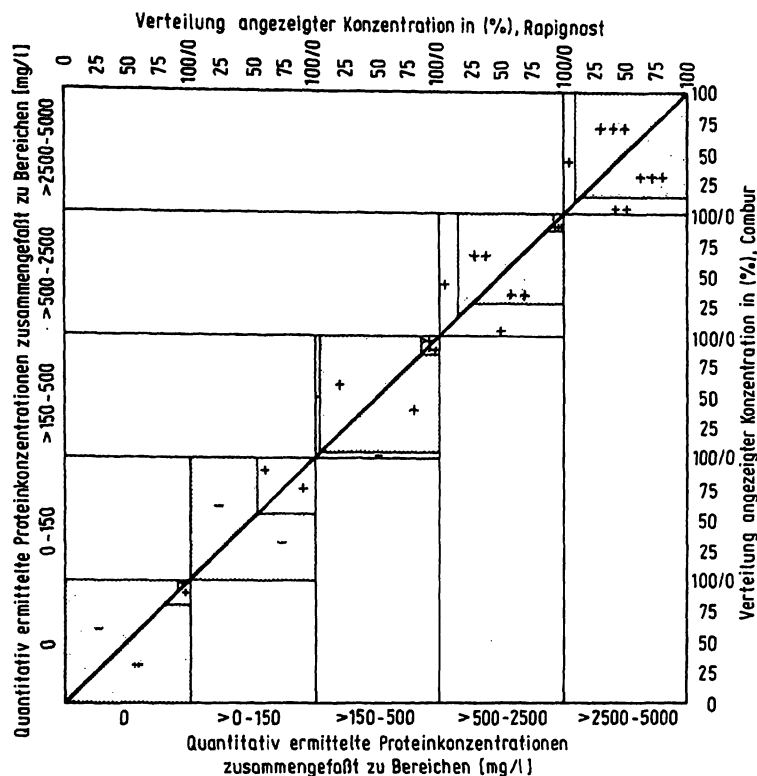


Abb. 1. Relative Verteilung der Teststreifenanzeige auf quantitativ ermittelte Konzentrationen.

In diesem Diagramm sind die Werte der Tabelle 2 zusammengefaßt. Die Kästchen oberhalb der 45°-Geraden sind Rapignost, die darunterliegenden Combur zuzuordnen. Die Symbole -/+ /++ /+++ entsprechen den Farbskalafeldern 0-150 bzw. neg./300/1000/5000.

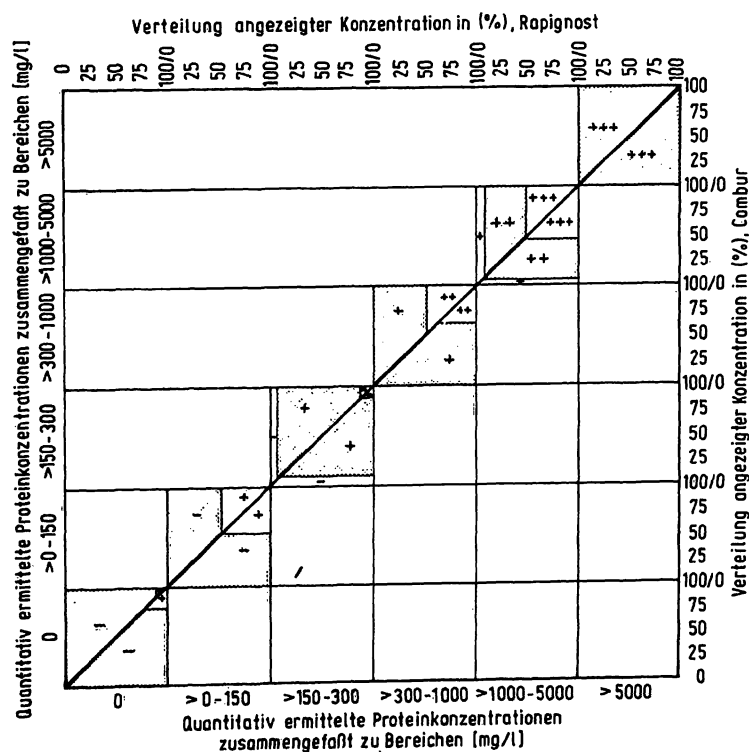


Abb. 2. Häufigkeitsverteilung der Teststreifenanzeigen aus Abb. 1.

führen. Die vorgelegten Resultate bestätigen allerdings, daß die Unterschiede nicht ins Gewicht fallen. Die Untersuchung zeigte speziell in dem für Notfalldiagnostik und Screeninguntersuchungen interessanten Konzentrationsbereich oberhalb 150 mg/l Protein im Urin eine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen quantitativer und Teststreifenaussage.

In den Bereichen > 300 – 1000 und > 1000 – 5000 mg/l wurde erwartungsgemäß eine Auftrennung der Teststreifenanzeigen auf die Konzentrationsstufen 300/1000 bzw. 1000/5000 der Farbvergleichsskalen erhalten.

Unter Berücksichtigung eines nichtlinearen Zusammenhangs zwischen visuellem Farbeindruck und Protein-

konzentration wurden folgende Bereiche der quantitativen Eiweißbestimmung den Meßpunkten der Teststreifenskala zugeordnet:

> 150 – $300 \hat{=} 300$ mg/l, > 500 – $2500 \hat{=} 1000$ mg/l,
 > 2500 – $5000 \hat{=} 5000$ mg/l.

Die Häufigkeitsverteilung der Teststreifenanzeigen ergibt in diesem Bereich 80–90% richtige Anzeigen für den Rapignoststreifen und etwa 60–85% richtige Anzeigen für den Combuststreifen (Abb. 2).

Insgesamt werden die Konzentrationsbereiche für semiquantitative Bestimmungen gut getrennt. Die Teststreifen zeigen allgemein richtige Resultate und eignen sich somit gut für Screeningzwecke.

Literatur

1. Tredt, H.-J., Stolze, G. & Friedemann, H. (1974) Dtsch. Gesundheitswes. 29, 488–494.
2. Hepler, O. E. (1970) Manual of Clinical Laboratory Methods, 4th Ed., S. 6, Verlag C. C. Thomas, Springfield.
3. Davidsohn, I. (1969) Clinical Diagnosis by Laboratory Methods (Todd, J. C & Sanford, A. H., eds.) 14th Ed., S. 34, WB Saunders Co., Philadelphia.
4. Fishberg, A. M. (1954) Hyper-Tension and Nephritis, 5th Ed., Verlag Lea and Febinger, Philadelphia.
5. Welty, J. W. (1937) Amer. J. Med. Sci. 194, 70–74.
6. King, S. E. & Baldwin, D. S. (1956) Amer. J. Med. Sci. 20, 217–224.
7. Kutter, D. (1976) Schnelltests in der klinischen Diagnostik, S. 97, Urban und Schwarzenberg, München/Berlin/Wien.
8. Gyure, W. L. (1977) Clin. Chem. 23, 876–879.
9. Feigl, F. & Anger, V. (1937) Mikrochim. Acta 2, 107–110.
10. Bowie, L., Smith, S. & Gochman, N. (1977) Clin. Chem. 23, 128–130.
11. Killingsworth, L. M., Britain, C. E. & Woodard, L. L. (1975) Clin. Chem. 21, 1465–1468.
12. Scholer, A., unveröffentlichte Arbeit.
13. Brehler, P. (1978) Ärztl. Lab. 24, 339–345.

Prof. Dr. D. J. Vonderschmitt
 Klinisch-chemisches Labor
 Kantonsspital
 CH-4031 Basel, Schweiz